

令和元年6月24日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19446

研究課題名（和文）脳内シナプス結合の構造情報データベースの基盤形成

研究課題名（英文）A database on in situ synaptic ultrastructures

研究代表者

深澤 有吾（FUKAZAWA, YUGO）

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：60343745

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、脳内シナプス8種類の詳細な微細構造情報、及び、各微細構造間に見られる統計学的に有意な相関を明らかにした。その結果、シナプス結合構造の共通則と固有則の両面が明らかになった。更に、個々のシナプス結合固有の構造特徴は神経活動やシナプス可塑性の影響を受けずに決定されていることを明らかにし、特定の遺伝子産物が特定のシナプス結合構造の特徴の制御に関与することも示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は脳内の複数のシナプス結合種の構造特徴を明らかにし、脳内シナプスの共通の構造則と固有則に関する知見を創出し、更には各種遺伝子のシナプス結合構造の構築への影響等を明らかにした。これらの知見は脳内神経回路の動作メカニズムや調節メカニズムを理解する基礎となり、更には神経疾患の病態解明の一助となることも期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study revealed quantitative ultrastructural information of 8 kinds of synaptic contacts at the nano-scale resolution and the statistically significant correlations between specific pairs of sub-synaptic ultrastructures, which in turn illustrated common and unique features in synaptic ultrastructures across these synaptic contacts. This study also demonstrated that neuronal activity and synaptic plasticity do not influence on the correlation between the sub-synaptic ultrastructures. Moreover, this study demonstrated novel roles of several genes in ultrastructural organization of the synapse.

研究分野：分子神経解剖学

キーワード：シナプス結合 微細構造 三次元再構築 電子顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

脳がどの様に内外の情報を処理し、保存し、読み出すことで新たな行動様式の選択と獲得を行っているのかを理解することは、生命科学研究の幅広い分野、また情報科学の分野にとっても興味深く、意義深い問題である。そこでヒトや実験動物の脳の神経回路構造を紐解き、詳細な脳の動作機構や認知症等の精神神経疾患の原因を明らかにすることを目指したプロジェクトが推進されていた(Blue Brain project in USA, Brain initiative in EU, Brain/MINDS in Japan)。この研究では、特定の神経細胞や回路を蛍光タンパク質等で光学顕微鏡的に可視化してその構造を解析すると共に、最近開発された連続断層撮影が可能な電子顕微鏡(コネクトミクス機器)で各脳領域を三次元的に観察することで脳内神経回路の全貌を明らかにしようとしていた。しかし、多種多様な神経細胞が複雑に絡み合っている脳組織の一部分の情報を繋ぎ合わせて行く方法には、膨大な時間と労力を要することが予想され、その目標達成には脳内情報を読み解く新たな方法論の開発と応用が必要であることも明らかであった。

2. 研究の目的

応募者は、脳内シナプスの伝達調節の分子機構を解明する目的で多種類のシナプス構造の微細形態と各種機能分子の発現分布について研究を行い、微細構造 - 機能分子分布 - 機能が互いに深く関連していることを明らかにしてきた (Neuron 2003, J. Neurosci. 2009, Cur. Op. Neurobiol. 2012, PNAS 2014 などを発表)。また、上述のコネクトミクス機器をいち早く使用する機会に恵まれ、シナプス小胞の分布と伝達機能との関連を明らかにした (Shinoda et al., Sci. Rep., 2016)。これらの解析を通じて、シナプス構造の各種微細構造には、シナプスにおける伝達特性を反映する特徴が存在し、この特徴はシナプスの種類毎に固有であることを発見した。このことは、脳内の各シナプス結合種の固有の微細構造情報を用いて、シナプスの種類を同定し、機能を推定することが可能であることを示唆していた。そこで本研究課題では、複数の脳内シナプス結合の微細構造情報のデータベースを構築しながら関連情報を収集することを目的とした。

3. 研究の方法

1) 脳内シナプス結合の微細構造情報の網羅的収集とデータベース構築

特定のシナプス結合種を選択的に観察できる海馬及び小胞皮質で、精密なシナプス結合の構造情報をコネクトミクス手法を用いて定量化し、脳内シナプス結合の微細構造情報のデータベースを構築する。

2) シナプス結合の微細構造相関情報から結合種を同定する技術の確立

シナプス結合種間に共通の構造相関情報と固有の微細構造相関情報を明らかにすることで、微細構造情報からシナプス種を同定する手法を確立する。

3) シナプス可塑性のシナプス結合内微細構造相関に与える影響の検討

豊富環境下で飼育されたマウスの特定の海馬シナプスの微細構造情報を取得し、神経活動やシナプス可塑性がシナプス結合内微細構造相関に与える影響を評価する。

4) 各種シナプス伝達関連遺伝子のシナプス微細構造の構築における役割の検討

シナプス結合形成や維持、成熟(可塑性)に関与することが示されている遺伝子に変異を持つマウスのシナプス微細構造を定量的に評価し、各遺伝子のシナプス結合内微細構造相関形成における役割を明らかにする。

4. 研究成果

1) 脳内シナプス結合の微細構造情報の網羅的収集とデータベース構築

8週令の雄マウスの脳内シナプス6種(内側嗅内野-歯状回シナプス、外側嗅内野-歯状回シナプス、海馬CA3-CA3シナプス、海馬CA3-CA1シナプス、嗅内野-海馬CA1シナプス、小脳平行線維-プルキンエ細胞シナプス)を対象に、シナプス前膨大部、ミトコンドリア、シナプス小胞、樹状突起スパイン、シナプス後肥厚、スパイン内小胞体構造の構造情報を明らかにし、各構造情報間の相関を明らかにした。

2) シナプス結合の微細構造相関情報から結合種を同定する技術の確立

1) で得られた構造情報を元に、シナプス結合種を同定する手法を試みたが、構造間の比に類似性が高く、シナプス種の同定に至らないケースが起こることを確認した。

3) シナプス可塑性のシナプス結合内微細構造相関に与える影響の検討

豊富環境下で飼育されたマウスの海馬CA3-CA1シナプスの微細構造間の比は、通常環境で飼育されたマウスのシナプス結合の微細構造間の比と同一であることが明らかとなった。このことから、シナプス活動や可塑的变化はシナプス結合内微細構造相関に影響しないことが示唆された。

4) 各種シナプス伝達関連遺伝子のシナプス微細構造の構築における役割の検討

シナプス結合構造の構築に関与する Neuroligin-3 の点突然変異マウス及び遺伝子欠損マウス、シナプス可塑性の発現に関与する CaMKII の点突然変異マウスや Arc 遺伝子変異マウス、シナプス結合内細胞骨格に関連する Septin-3 の遺伝子欠損マウスなどのシナプス微細構造を解析し、各遺伝子産物のシナプス結合内微細構造相関における個々の役割を同定した。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 0 件) 全て査読有り

1. Murata Koshi, Kinoshita Tomoki, Fukazawa Yugo, Kobayashi Kenta, Yamanaka Akihiro, Hikida Takatoshi, Manabe Hiroyuki, Yamaguchi Masahiro. (2019) Opposing Roles of Dopamine Receptor D1- and D2-Expressing Neurons in the Anteromedial Olfactory Tubercle in Acquisition of Place Preference in Mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 13: 50. doi: 10.3389/fnbeh.2019.00050.
2. Sato-Hashimoto Miho, Hayashi Yuriko, Nozu Tomomi, Toriba Riho, Horikoshi Ayano, Akaike Miho, Nagai Hiromi, Shimizu Wakana, Hirose Ayaka, Kawamoto Kyoko, Saiki Ayaka, Ishikawa Takuya, Elhanbaly Ruwaida, Kotani Takenori, Murata Yoji, Saito Yasuyuki, Naruse Masae, Shibasaki Koji, Oldenborg Pre-Arne, Jung Steffen, Matozaki Takashi, Fukazawa Yugo, Ohnishi Hiroshi. (2019) Microglial SIRP α regulates the emergence of CD11c+ microglia and demyelination damage in white matter. *eLife* e42025. doi: 10.7554/eLife.42025
3. Xie Min-Jue, Ishikawa Yasuyuki, Yagi Hideshi, Iguchi Tokuichi, Oka Yuichiro, Kuroda Kazuki, Iwata Keiko, Kiyonari Hiroshi, Matsuda Shinji, Matsuzaki Hideo, Yuzaki Michisuke, Fukazawa Yugo, Sato Makoto. (2019) PIP₃-Phldb2 is crucial for LTP regulating synaptic NMDA and AMPA receptor density and PSD95 turnover. *Scientific Reports* 9(1): 4305. doi: 10.1038/s41598-019-40838-6
4. Lujan Rafael, Aguado Carolina, Ciruela Francisco, Arus Xavier Morató, Martín-Belmonte Alejandro, Alfaro-Ruiz Rocio, Martínez-Gómez Jesús, de la Ossa Luis, Watanabe Masahiko, Adelman John, Shigemoto Ryuichi, Fukazawa Yugo. (2018) SK2 channels associate with mGlu1 α receptors and Cav2.1 channels in Purkinje cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12: 311. doi: 10.3389/fncel.2018.00311
5. Kakegawa Wataru, Katoh Akira, Narumi Sakae, Miura Eriko, Motohashi Junko, Takahashi Akiyo, Kohda Kazuhisa, Fukazawa Yugo, Yuzaki Michisuke, Matsuda Shinji. (2018) Optogenetic Control of Synaptic AMPA Receptor Endocytosis Reveals Roles of LTD in Motor Learning. *Neuron* 99: 985-998. doi: 10.1016/j.neuron.2018.07.034
6. Shinoda Tomoyasu, Nagasaka Arata, Inoue Yasuhiro, Higuchi Ryo, Minami Yoshiaki, Kato Kagayaki, Suzuki Makoto, Kondo Takefumi, Kawae Takumi, Saito Kanako, Ueno Naoto, Fukazawa Yugo, Nagayama Masaharu, Miura Takashi, Adachi Taiji, Miyata Takaki. (2018) Elasticity-based boosting of neuroepithelial nucleokinesis via indirect energy transfer from mother to daughter. *PLOS Biology* 16(4):e2004426. doi: 10.1371/journal.pbio.2004426. [PMID: 29677184]
7. Lanjakornsiripan Darin, Pior Baek-Jun, Kawaguchi Daichi, Furutachi Shohei, Tahara Tomoaki, Katsuyama Yu, Suzuki Yutaka, Fukazawa Yugo, Gotoh Yukiko. (2018) Layer-specific morphological and molecular differences in neocortical astrocytes and their dependence on neuronal layers. *Nature Commun* 9(1):1623. doi: 10.1038/s41467-018-03940-3. [PMID: 29691400]
8. Tashima Ryoichi, Koga Keisuke, Sekine Misuzu, Kanehisa Kensho, Kohro Yuta, Tominaga Keiko, Matsushita Katsuyuki, Tozaki-Saitoh Hidetoshi, Fukazawa Yugo, Inoue Kazuhide, Yawo Hiromu, Furue Hidemasa, and Tsuda Makoto. (2018) Optogenetic activation of non-nociceptive A β fibers induces neuropathic pain-like sensory and emotional behaviors after nerve injury in rats. *eNeuro* 5(1): e0450-17. doi: 10.1523/ENEURO.0450-17.2018. [PMID: 29468190]
9. Luján Rafael, Aguado C, Ciruela F, Cózar J, Kleindienst D, de la Ossa L, Wickman K, Watanabe Masahiko, Shigemoto Ryuichi, Fukazawa Yugo. (2017) Differential association of GABAB receptors with their effector ion channels in Purkinje cells. *Brain Structure and Function* 223(3):1565-1587. doi: 10.1007/s00429-017-1568-y [PMID: 29177691]
10. Rubio María E., Matsui Ko, Fukazawa Yugo, Kamasawa Naomi, Harada Harumi, Itakura Makoto, Molnár Elek, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Shigemoto Ryuichi. (2017) The number and distribution of AMPA receptor channels containing fast kinetic GluA3 and GluA4 subunits at auditory nerve synapses depend on the target cells. *Brain Structure and Function* 222(8):3375-3393. doi: 10.1007/s00429-017-1408-0. [PMID:28397107]

[学会発表] (計 3 1 件)

1. (シンポジウム招待講演) 深澤有吾, Elhanbaly Ruwaida, 石川達也「軸索-棘シナプス結合の微細構造相関解析とその応用」第 123 回日本解剖学会総会全国学術集会シンポジウム「生体機能と形態をつなぐ三次元微細構造解析技術の新たな応用」(東京都武蔵野市), 2018 年 3 月 29 日
2. (シンポジウム招待講演) 深澤有吾「SDS-FRL 法による定量的膜分子局在解析」第 69 回日本細胞生物学会大会シンポジウム「先端イメージングが解き明かす新しい細胞像」, 仙台国際センター(仙台市), 2017 年 6 月 14 日
3. (学会基調講演) Yugo Fukazawa “Common and Unique Ultrastructural Rules across Axospinous Synapses in the Mouse Brain Revealed by FIB-SEM Imaging: A novel method for structural

- analysis of the synapse in normal mice and disease mice models” The 2nd Neuroscience Society of Nepal, Nepal-Japan Neurosymposium, National Academy of Science and Technology of Nepal (Lalitpur, Nepal), May 3rd, 2017.
4. (公開講座) 深澤有吾 「脳内微細構造と分子局在の電子顕微鏡解析支援:凍結切断レプリカ標識法」日本生理学会・アジアオセアニア生理学会合同大会 ランチョンセミナー 神戸国際会議場, 兵庫, 2019年3月30日
 5. (公開講座) 深澤有吾 「シナプス結合構造の構築則と制御分子機構の解明」群馬大学大学院, 群馬, 2019年2月4日
 6. (公開講座) 深澤有吾 「脳内軸索-棘シナプス結合の微細構造相関解析とその応用」金沢大学大学院医薬保健学総合研究科, 石川, 2018年5月16日
 7. (公開講座) 深澤有吾 「スパインシナプスの構築則とその分子機構」第3回イオンチャンネル研究会~チャンネルフェニックス~ 福井市総合ボランティアセンター, 福井, 2018年7月19日 20日
 8. (公開講座) Yugo Fukazawa “Common and Unique Construction Rules across Axospinous Synapses in the Mouse Brain: A novel approach for structural analysis of the synapse based on correlated organization of sub-synaptic fine structures obtained by FIB-SEM Imaging” Symposium “Nanobiology of neural plasticity based on optical nanoscopy” Doshisha University Biwako Retreat Center, Shiga, 2017.11.29-12.1
 9. (公開講座) 深澤有吾 「FIB-SEMを用いたシナプス微細構造の定量解析: Quantitative analysis of fine structure of synapses by FIB-SEM」第40回日本神経科学大会 FEI ランチョンセミナー 幕張メッセ, 千葉, 2017年7月22日
 10. (学会発表) 黒田一樹, 石川達也, 村田航志, 深澤有吾 (2019年3月27日~29日ポスター) 「凍結切断レプリカ標識法と免疫タグノックインを組合せた神経細胞における Na⁺/K⁺ ATPase α 3 の定量的膜上分布解析」第124回日本解剖学会全国学術集会, 朱鷺メッセ (新潟)
 11. (学会発表) 篠田友靖, 長坂新, 井上康博, 樋口亮, 南佳晃, 加藤輝, 鈴木誠, 近藤武史, 川上巧, 齋藤加奈子, 深澤有吾, 三浦岳, 安達泰治, 長山雅晴, 宮田卓樹 (2019年3月27日~29日ポスター) 「細胞間の「力」の授受が、神経前九細胞の秩序だった運動と大脳発生に重要である」第124回日本解剖学会全国学術集会, 朱鷺メッセ (新潟)
 12. (学会発表) Yugo Fukazawa, Taito Sakurai, Ruwaida Elhanbaly, Tatsuya Ishikawa (2019.3.30ポスター) ”Construction rules of the axospinous synapses revealed by FIB-SEM imaging” 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (兵庫県神戸市)
 13. (学会発表) 永井裕美, 橋本美穂, 堀越絢乃, Ruwaida Elhanbaly, 石川達也, 的崎尚, 深澤有吾, 大西浩史 (2018.9.6~2018.9.8ポスター) 「白質の損傷と修復を制御するミクログリアの分子シグナル」第61回日本神経化学学会大会 (兵庫県神戸市)
 14. (学会発表) Min-Jue Xie, Keiko Iwata, Yugo Fukazawa, Hideo Matsuzaki (2018.7.26ポスター) “Reduced social interaction and communication in N-ethylmaleimide sensitive factor knockout mice” 第41回日本神経科学大会 (兵庫県神戸市)
 15. (学会発表) Koshi Murata, Tomoki Kinoshita, Kenta Kobayashi, Hiroyuki Manabe, Yugo Fukazawa, Masahiro Yamaguchi. (2018.7.27ポスター) “Effects of optogenetic stimulation of the mouse olfactory tubercle in place preference test” 第41回日本神経科学大会 (兵庫県神戸市)
 16. (学会発表) Tomoyasu Shinoda, Arata Nagasaka, Yasuhiro Inoue, Ryo Higuchi, Yoshiaki Minami, Kagayaki Kato, Makoto Suzuki, Takefumi Kondo, Takumi Kawae, kanako Saito, Yugo Fukazawa, Masaharu Nagayama, Takashi Miura, Taiji Adachi, Takaki Miyata (2018.7.27 LBAポスター) 第41回日本神経科学大会 (兵庫県神戸市)
 17. (学会発表) Yugo Fukazawa (2018.7.28 LBAポスター) “Construction rules of the axospinous synapse revealed by quantitative electron microscopy and novel structural anomalies of the synapse in gene-mutated mouse lines” 第41回日本神経科学大会 (兵庫県神戸市)
 18. (学会発表) Yasunori Mori, Yugo Fukazawa, Shigeo Takamori (2018.6.5~2018.6.8: 6.6 口頭, 6.7ポスター) “Endosomal Q-SNARE Syntaxin 7 specifies a subpopulation of recycling synaptic vesicles preferentially responsive to high frequency stimulation” Joint annual meeting of 51st JSDB and 70th JSCB 第70回日本細胞生物学会大会 (東京都)
 19. (学会発表) 萩原明, 深澤有吾, 河野まや, 掛川涉, 阿部学, 崎村建司, 柚崎通介, 大塚稔久 (2018.3.28-30) 「小脳・神経回路の形成におけるシナプス前終末タンパク質の形態学的機能解析」第123回日本解剖学会総会全国学術集会 (東京都武蔵野市) 口頭発表
 20. (学会発表) 木下智貴, 村田航志, 小林憲太, 深澤有吾, 山口正洋, 森憲作, 眞鍋寛之 (2017.10.7) 「視床下部外側核に投射するマウス嗅皮質領域の発見」第77回日本解剖学会中部支部学術集会 (愛知)
 21. (学会発表) 石川達也, 村田航志, 黒田一樹, 深澤有吾 (2017.10.7) 「Na/K-ATPaseの神経細胞膜上発現分布の定量的局在解析」第77回日本解剖学会中部支部学術集会 (愛知)
 22. (学会発表) Kuroda Kazuki, Hideshi Yagi, Min-Jue Xie, Yugo Fukazawa, Yuichiro Oka, Tokuichi Oka, Makoto Sato (2017.9.7) FILIP-related molecule binds to NMDA receptor and controls spine morphology and synaptic function of the hippocampal neuron. 第60回日本神経科学学会大会 (仙台)

23. (学会発表) 上田(石原)奈津実, 深澤有吾, 鈴木悠大, 増田啓吾, 高雄啓三, 宮川剛, 尾藤晴彦, 木下専 (2017.7.20) 「空間弁別に必要なセプチン依存的シナプス制御: A septin-dependent synaptic regulation required for spatial discrimination」 第40回日本神経科学大会(千葉)
24. (学会発表) 重本隆一, Mingzhu Zhai, 王文, Hollergschwandtner Elena, 深澤有吾, 板倉誠, 饗場篤, De Zeeuw Chris (2017.7.20) 「運動学習の長期記憶形成には短期記憶は必要ない: Short-term memory is dispensable for long-term memory formation in motor learning」 第40回日本神経科学大会(千葉)
25. (学会発表) 村田航志, 小林憲太, 深澤有吾, 山口正洋, 森憲作, 眞部寛之 (2017.7.20) 「視床下部外側野に投射する嗅皮質亜領域の同定: Identification of a novel subregion of the olfactory cortex projecting to the lateral hypothalamus in mice」 第40回日本神経科学大会(千葉)
26. (学会発表) 深澤有吾, エルハンバリー ルワイダ, 石川達也 (2017.7.21) 「スパインシナプスの微細構造則と多様性: Common and Unique Ultrastructural Rules among Axospinous Synapses in the Mouse Brain Revealed by FIB-SEM Imaging」 第40回日本神経科学大会(千葉)
27. (学会発表) Parajuli Kumar Laxmi, 高橋愛, 岩崎広英, 深澤有吾, 岡部繁男 (2017.7.21) 「Anatomical diversity of dendritic spines and their organizational principles in a subset of central synapses」 第40回日本神経科学大会(千葉)
28. (学会発表) 石井千晶, 篠田陽, 深澤有吾, 定方哲史, 石井佑季, 佐野良威, 岩里琢治, 糸原重美, 古市貞一 (2017.7.21) 「CAPS1 はシナプス小胞を活性帯上で安定化させることで海馬 CA3-CA1 シナプスにおいて開口放出を調節する: CAPS1 regulates the exocytosis of synaptic vesicles by stabilizing them on active zones in hippocampal CA3-CA1 synapses」 第40回日本神経科学大会(千葉)
29. (学会発表) 石川達也, 村田航志, 黒田一樹, 深澤有吾 (2017.7.22) 「マウス海馬および歯状回神経細胞における Na/K-ATPase サブユニットアイソフォームの細胞膜上発現分布: Cellular and subcellular distribution of Na/K-ATPase isoforms in the mouse hippocampal and dentate gyrus neurons」 第40回日本神経科学大会(千葉)
30. (学会発表) 大西浩史, 橋本美穂, 野津智美, エルハンバリー ルワイダ, 石川達也, 深澤有吾, 崎尚 (2017.7.22) 「ミクログリア活性化を制御する細胞間相互作用シグナルの解析: Regulation of Microglial Activation by A Cell-cell Communication Signal」 第40回日本神経科学大会(千葉)
31. (学会発表) 村田航志, 小林憲太, 深澤有吾, 山口正洋, 森憲作, 眞部寛之 (2017.6.10-11) 「視床下部外側野に投射する嗅皮質領域の発見」 生理研研究会 第2回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会(愛知)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.med.u-fukui.ac.jp/laboratory/brain/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 石川 達也

ローマ字氏名: ISHIKAWA TATSUYA

所属研究機関名: 金沢大学

部局名: 医学系

職名: 助教

研究者番号(8桁): 00750209

研究分担者氏名: 加藤 輝

ローマ字氏名: KATO KAGAYAKI

所属研究機関名: 大学共同利用機関法人自然科学研究機構(新分野創成センター、アスト)

ロバイオロジーセンター、生命創成探究センター)

部局名：生命創成探究センター

職名：特任助教

研究者番号(8桁): 30391915

(2)研究協力者 該当無し。

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。